



Institut für Anorganische Chemie

Sommersemester 2010

Umweltchemisches Praktikum inklusive Exkursion

LV-Nr.: 270209 PR

Thema des Projekts:

Moorwasser als natürlicher Eisendünger des Ozeans

1. Grundlagen

1.1. Eisen

- Eisen besitzt 6 3d Elektronen und 2 4s Elektronen und somit 8 Valenzelektronen, die an chemischen Bindungen teilnehmen können. Eisen kann die Oxidationsstufen +6 bis -2 annehmen, in der Natur gibt es aber vor allem Fe^{2+} und Fe^{3+} , die beide als high spin oder low spin Ionen vorkommen können.
- Als Übergangsmetall formt Eisen mit vielen Liganden Koordinationsverbindungen. Koordinationszahlen von 3 bis 8 sind möglich, 6 ist bevorzugt.
- High-spin Fe^{3+} ist eine härtere Lewis-Säure als high-spin Fe^{2+} und es koordiniert daher lieber härtere Lewis-Basen, es bindet daher vor allem an sauerstoffhaltige, weniger an stickstoffhaltige Liganden. (Anders als die high-spin d^5 liefert die low-spin d^5 Elektronenkonfiguration Ligandenfeldstabilisierungsenergie, demgemäß bildet low-spin Fe^{3+} zwar nicht mit einzähligen, aber mit mehrzähligen Stickstoffliganden doch auch recht stabile oktaedrische Komplexe.)
- High-spin Fe^{2+} ist eine weichere Lewis-Säure als high-spin Fe^{3+} und koordiniert deshalb lieber weichere Lewis-Basen (lieber an stickstoffhaltige, weniger an sauerstoffhaltige Liganden).
- Das natürlich vorkommende Eisen hat eine Atommasse von 55.847 und besteht aus den stabilen Isotopen ^{54}Fe (5,8 %), ^{56}Fe (91,7 %), ^{57}Fe (2,2 %) (besitzt Kernspin) und ^{58}Fe (0,3 %). Der Atomkern des Eisenisotops ^{56}Fe weist einen der größten Massendefekte und damit eine der höchsten Bindungsenergien pro Nukleon aller Atomkerne auf.

- Eisen ist ein sehr häufiges Element auf der Erde. Betrachtet man die Erde als Ganzes, so ist Eisen nach Sauerstoff das zweithäufigste Element. Es macht 90% der Masse des Erdkerns aus und ist in der Erdkruste das vierthäufigste Element nach Sauerstoff, Silicium und Aluminium.
- **Biologische Rolle des Eisens:** Sehr vielfältig, beinahe alle Organismen incl. Pilze benötigen Eisen (wenige Ausnahmen, wie *Lactobacillus*). Eisen-Tetrapyrrol Komplexe: Hämoglobin, Myoglobin, Cytochrome, Catalase, Peroxidase. Eisen-Schwefel-Proteine: z.B. Ferredoxin, Mitochondrien-Ferredoxin.
- Eisen(II) in wässriger Lösung wird in Gegenwart von Luftsauerstoff sehr rasch zu Fe(III) oxidiert, hydrolysiert und das Fe(III)-Hydroxid ist extrem schwerlöslich. Daher ist die Bioverfügbarkeit des Eisens trotz seiner Häufigkeit gering und dies gilt ganz besonders für **die Ozeane**.
- **Giftigkeit des Eisens durch die Fenton Reaktion**
 - (1) $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}\cdot + \text{OH}^-$
 - (2) $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{OOH}\cdot + \text{H}^+$
- H_2O_2 entsteht im normalen Zellmetabolismus im Zuge der Reduktion von O_2 . Daher müssen alle Organismen dafür sorgen, dass kein gelöstes Eisen vorhanden ist (Eisen gebunden an Komplexliganden, Proteine).

1.2. Atmosphärisches CO_2 und der globale Klimawandel

Die zivilisatorische Tätigkeit des modernen Menschen hat zu einem Anstieg des atmosphärischen CO_2 Gehalts vom vorindustriellen Wert von 280 ppm auf den heutigen Wert von 380 ppm geführt, siehe Abb. 1.

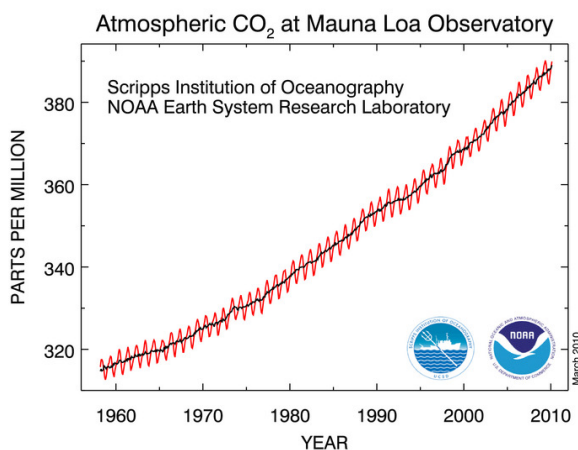


Abb. 1: Anstieg des atmosphärischen CO_2

Diese rasch fortschreitende Veränderung der Zusammensetzung der Atmosphäre hat einen heute bereits einwandfrei nachweisbaren globalen Klimawandel in Gang gesetzt. Unser Klimasystem ist ins Driften geraten. Was daran besonders beunruhigend ist: Wir bewegen uns auf einen völlig unbekanntem bzw. nur unzureichend modellierbaren zukünftigen Klimazustand zu, der sehr bedrohliche Eigenschaften haben könnte. (siehe dazu R. Karl, K.E. Trenberth, "Modern Global Climate Change", Science Vol. 302 No. 5681, p. 1719 (2003)).

1.3. Die ozeanische biologische Kohlenstoff-Pumpe

Die marine Primärproduktion spielt eine anerkannte Schlüsselrolle im globalen CO₂ Kreislauf. Das Phytoplankton entzieht durch die Photosynthese der Atmosphäre CO₂ und baut es in die lebende Biomasse ein. Die einzelnen Planktonorganismen leben nur eine kurze Zeitspanne. Nach dem Absterben wird ein Teil (ca. 20%) des in der Biomasse gebundenen Kohlenstoffs nicht wieder zu CO₂ veratmet und der Atmosphäre zurückgegeben, sondern es erfolgt ein Absinken des toten organischen Materials in große Tiefen („Organismen-Regen“). Auch Kot-Pellets des Krills und andere feste organische Abfallprodukte sinken ab.

Die mittlere Tiefe des Ozeans beträgt 3800 m. Die Wassermassen der Tiefe sind mit der Atmosphäre nicht in Kontakt. Der durch Absinken in die Tiefe gelangte organische Kohlenstoff wird dort zwar zum Großteil zu CO₂ oxidiert, bleibt aber im Tiefenwasser gelöst und somit Jahrhunderte bis Jahrtausende der Atmosphäre entzogen, bis die großräumige Zirkulation der Ozeane ihn schließlich wieder an die Oberfläche bringt. (Zum kleinen Teil wird auch organischer Kohlenstoff in den Sedimenten begraben, wo er dann Jahrtausende verbleiben kann.)

Diese sogenannte „marine biologische Kohlenstoff-Pumpe“ verfrachtet atmosphärisches CO₂ langfristig in die Tiefen des Ozeans. So wirkungsvoll, dass dieser Prozess die atmosphärische CO₂ Konzentration um 150 bis 200 ppm niedriger hält, als sie es wäre, wenn in den Meeren keine Photosynthese stattfände. (Siehe "The Global Carbon Cycle: A Test of Our Knowledge of Earth as a System", P. Falkowski et al., Science Vol. 290, No. 5490, p. 291 (2000).)

1.4. Eisen als das Wachstum begrenzender Nährstoff

Eisen ist ein häufiges Element in der Erdkruste (4,7 Massen%). Trotzdem ist die Phytoplankton-Produktion in weiten Teilen des Weltozeans durch sehr geringe

Eisenkonzentrationen limitiert (HNLC = "high nutrient low chlorophyll" - Regionen). D.h. der im Überschuss vorhandene und daher das Wachstum begrenzende Nährstoff ist das Eisen. Dies ist eine Folge der extremen Schwerlöslichkeit des Eisen(III)-Hydroxids im Meerwasser.

Eisen ist essentiell für Wachstum und Metabolismus fast aller marinen Organismen. Ohne Eisen gibt es z.B. keinen Elektronentransport bei Photosynthese und Atmung, keine Nitrat- und Nitrit-Reduktion, keine Stickstoff-Fixierung, keine Sulfatreduktion.

Die wichtigsten natürlichen Vorgänge, welche die marine Biosphäre mit Eisen versorgen können, sind die folgenden:

Flusswasser

Die Versorgung der marinen Biosphäre mit essentiellen Elementen ergibt sich überwiegend aus der chemischen Verwitterung der Gesteine der Kontinente. Der Transport der gelösten Salze ins Meer erfolgt durch den kontinentalen Abfluss (ca. 4×10^{16} Liter pro Jahr).

Eisen liegt in Fließgewässern typischerweise als kolloidales Fe(III)hydroxid vor, und zwar in Form positiv geladener Kolloidpartikel, die beim Einfließen des Flusswassers ins Meer unter den Salinitäts- und pH-Bedingungen der Küstengewässer zu mehr als 99% ausflocken und im Schelfbereich sedimentieren. Der Beitrag der Flüsse zur Eisenversorgung des offenen Ozeans wurde daher in den vergangenen Jahrzehnten als vernachlässigbar eingestuft.

Regenwasser

Eisen wird in der Atmosphäre als sehr feinkörniger Eisen-Mineralstaub transportiert. Dieser entsteht in Trockengebieten durch physikalische Verwitterung (thermische Verwitterung, Frostverwitterung, Gletscherschliff etc.), wird vom Wind verfrachtet und gelangt durch trockene Deposition oder mit dem Regen ins offene Meer. Hier zeigt der Mineralstaub die Tendenz, sofort abzusinken und zu sedimentieren. Trockene Deposition hat daher keine Düngewirkung. Allerdings wurde ein Düngungseffekt nach Regenfällen nachgewiesen. Dies wird darauf zurückgeführt, dass Eisenmineral-Aerosolpartikel als Kondensationskerne für Wolkenröpfchen dienen können. Im Wolkenwasser kommt es zur teilweisen Auflösung der Mineralpartikel unter Entstehung von gelöstem Eisen(II). Der Regen enthält dann bioverfügbares gelöstes Eisen(II). Dieses wird zwar im Ozeanwasser zu unlöslichem Eisen(III)hydroxid umgewandelt, die Plankton-Lebensgemeinschaften haben jedoch spezielle

Strategien entwickelt, indem sie Siderophore ausscheiden, um das Eisen rasch in eine lösliche komplex gebundene Form zu bringen, bevor es durch Absinken in die Tiefe verloren geht.

Aus Überlegungen des Klimaschutzes heraus ist eine großräumige künstliche Eisendüngung bestimmter eisenarmer Gebiete der Ozeane vorgeschlagen worden (HNLC Regionen, = "high nutrient-low-chlorophyll", das sind, wie bereits erwähnt, Gebiete, welche bis auf Eisen alle Pflanzennährstoff in ausreichender Konzentration enthalten). Man hat in mesoscale Versuchen vom Schiff aus Eisen(III)sulfat ins Ozeanwasser eingebracht und tatsächlich einen Düngungseffekt und Absinken von organischem Kohlenstoff in tiefe Schichten nachgewiesen. Allerdings gibt es ernste Bedenken gegen ein solches unökologisches Vorgehen. (Siehe K.S. Johnson, D.M. Karl, "Is Ocean Fertilization Credible and Creditable?", Science Vol. 296, No. 5567, p. 467 (2002).)



Abb. 2: Logo der EisenEx Expedition: Feldversuch im Südlichen Ozean (2000). Inzwischen fanden 2004 und 2009 noch weitere Experimente zur Düngung des Meeres mit Eisensulfat statt.

Wir schlagen demgegenüber die Anwendung eines nachhaltigen Ökosystem-Managements der Moore vor, zur Erhöhung der Fähigkeit dieser Ökosysteme, das Meer auf natürlichem Wege mit Eisen zu düngen. Man könnte von in Küstenferne gelegenen Mooren abfließendes Wasser mit Hilfe von Pipelines in die Küstengewässer transportieren. Diese Methode würde keine ökologischen Schäden anrichten und könnte wesentlich höhere Effizienz erreichen als die Ausbringung anorganischer Eisensalze vom Schiff aus, wo das Eisen in großen Mengen über kurze Zeit hinzugefügt wird, was dazu führt, dass der größte Teil des ausgebrachten Eisens als Eisenhydroxid ausfällt und durch Sedimentation verloren geht.

Ziel des vorliegenden Forschungsbeispiels ist es, zur Beantwortung der Frage beizutragen, ob der Beitrag der Moore zur Eisenversorgung der Ozeane tatsächlich groß genug sein könnte, um die Fruchtbarkeit der Ozeane insgesamt deutlich zu erhöhen und die Anreicherung von CO₂ in der Atmosphäre zu bremsen.

1.5. Humin- und Fulvosäuren als Chelatbildner für Eisen

In Oberflächengewässern liegt gelöstes Eisen nicht nur als (hydrolysiertes) Eisen(III) Ion, sondern – zu einem je nach Gewässer stark unterschiedlichen Anteil - komplex gebunden vor. Geeignete organische Liganden werden in marinen, aber auch in terrestrischen Ökosystemen gebildet. Es handelt sich bei den terrestrischen Liganden um – aus dem mikrobiellen Abbau von Lignocellulose stammende – Humin- und Fulvosäuren, die sich an der Verwitterung eisenhaltiger Minerale im Boden beteiligen und das Eisen in Lösung bringen. Aus den Böden ausgeschwemmte und von Flüssen transportierte Eisen-Huminstoff-Kolloide neigen ebenso wie das hydrolysierte Eisen(III) Ion dazu, im Küstenbereich auszuflocken und zu sedimentieren, dies geschieht jedoch nur mit den höhermolekularen Fraktionen¹. Ein bestimmter Anteil bleibt im Meerwasser gelöst und kann von aquatischen Mikroorganismen aufgenommen werden.

Die Transportfähigkeit der Flüsse für Eisen ist im kalten Klima erhöht. In kalten Klimaten ist ganz allgemein der vollständige Abbau des pflanzlichen organischen Materials stark verlangsamt. In Permafrostböden kommt es mit dem Auftauen der oberen Bodenschichten im Frühjahr zur Ansammlung von Schmelzwasser, weil die darunter liegende kontinuierliche Permafrostschicht den Abfluss des Wassers verhindert. Es entstehen

¹ Krachler R., Krachler R.F., von der Kammer F., Süphandag A., Jirsa F., Ayromlou S., Hofmann T., Keppler B.K. (2010). Relevance of peat draining rivers for the riverine input of dissolved iron into the ocean. *Science of the Total Environment* 408: 2402-2408.

ausgedehnte Feuchtgebiete mit der für kalte Moorlandschaften typischen Vegetation. Charakteristisch ist die Anreicherung von gelösten Humin- und Fulvosäuren, wodurch die Flüsse der Tundren und borealen Wälder eine dunkle Teefarbe aufweisen, während in gemäßigten und warmen Klimaten ein (sauberer) Fluss meist eine blaue oder blaugrüne Färbung zeigt (Ausnahmen: Hochmoore der gemäßigten Zonen, aber auch subtropische und tropische Hochmoore). Da die gelösten bzw. kolloidal gelösten Humin- und Fulvosäuren Chelatbildner sind, welche Eisenionen komplexieren können, kommt es im teefarbenen Flusswasser zu wesentlich höheren Eisenkonzentrationen als in huminstoffarmen Fließgewässern.

2. Praktischer Teil: Einführung und Prozedere

2.1. Ziel

Unter dem Einfluss von atmosphärischem Sauerstoff wird pedogenes Eisen-II zum äußerst gering löslichen Fe^{3+} oxidiert. Als Goethit $\text{FeO}(\text{OH}) \cdot n \text{H}_2\text{O}$ ist es wichtiger Bestandteil von diversen Bodensystemen, gelangt aber auf Grund seiner extremen Unlöslichkeit nur in geringen Mengen in die Ozeane. Für marine Systeme ist das Element Eisen daher häufig der die Produktion limitierende Faktor.

Die einzige mobile Form des Eisens sind Eisenkomplexe, wie sie in kontinentalen Oberflächengewässern häufig präsent sind. Als Liganden fungieren die Abbauprodukte pflanzlicher Gerüstsubstanzen, insbesondere der Lignine, die komplexbildende Gruppen, insbesondere Carboxyl-, Phenol-, Ether-, Keto-, Aldehyd-, Methoxygruppen in hoher Zahl tragen.

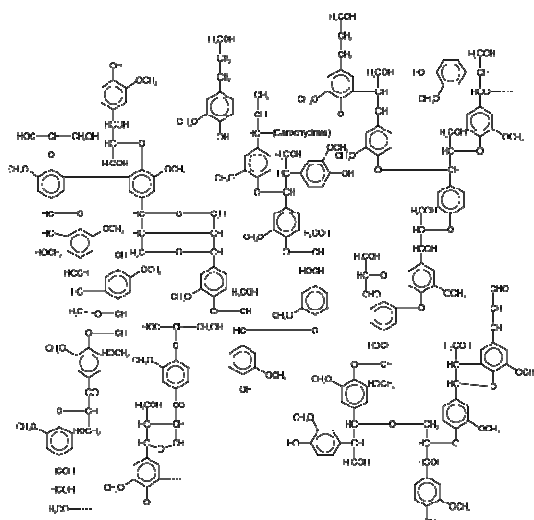


Abb. 3: Ligninausschnitt (Beispiel). Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Lignin>

Die Löslichkeit der Huminstoffe ist umso größer

- (i) je geringer die Molekülgröße (in Dalton) ist
- (ii) je höher der pH: In alkalischer Umgebung werden die (leicht sauren) phenolischen OH-Gruppen und die Carboxylgruppen deprotoniert: je anionischer, desto besser löslich sind die großen Moleküle im polaren LM Wasser.

Die Fulvosäuren sind so kleine Einheiten, dass sie auch im stark sauren Medium noch gelöst vorliegen. (per def.)

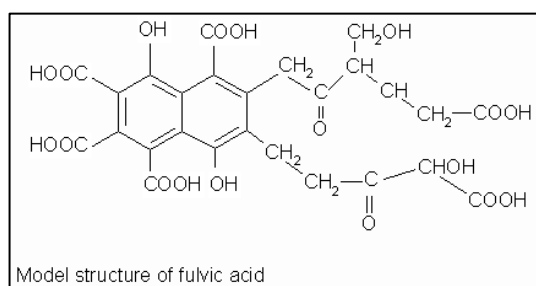


Abb. 4: Beispiel für eine Fulvosäure

Quelle: <http://www.humet.com/acatalog/humifulvatescience.html>

Inwieweit ins Meer mündende Flüsse die Eisenversorgung (und Versorgung mit eisenbindenden organischen Liganden) mariner Systeme abdecken können, hängt ab

- (i) von der Huminstoffführung der Flüsse (eine Frage der Pflanzengesellschaften im Einzugsgebiet)
- (ii) welcher Anteil der Fe-Huminstofffracht die Phase der Mischung mit Meerwasser (im Mündungsbereich) in löslicher Form überdauert und in mariner (thalassohaliner) Umgebung stabil bleibt und tatsächlich für die Produktion zur Verfügung steht.

2.2. Methode

Huminstoffreiches Moorwasser aus Österreich (Tannermoor, östliches Mühlviertel, Oberösterreich) wird mit einer synthetischen Meersalzmischung auf die Salinität des Meerwassers angehoben. Damit werden die Prozesse der Aufsalzung und der subsequenten Ausfällung der höhermolekularen Huminstofffracht in der mixing zone simuliert.

Die in der Lösung verbleibenden Fe-Komplexe werden hinsichtlich der Art der Liganden mit GC-MS untersucht.

3. Arbeitsplan:

Exkursion:

20L Moorwasser werden aus der Natur entnommen, vorfiltriert und anschließend zwecks Entfernung der Bakterien durch 0,2 μ Celluloseacetatfilter druckfiltriert. Die Druckfiltration ist der Vakuumfiltration aus 2 Gründen vorzuziehen:

- Die Druckfiltration ist schneller, weil eine höhere Druckdifferenz als bei der Vakuumfiltration(max. 1 bar Luftdruck!) aufgebaut werden kann (5-8 bar)
- Die an zahlreichen Gleichgewichten beteiligten Gase CO₂ und O₂ gasen bei Vakuumfiltration aus während sie bei Druckfiltration erhalten bleiben.

1.Abschnitt:

Aus dem filtrierten Moorwasser werden Proben entnommen und auf DOC analysiert, weitere Proben werden mit Flammen-AAS oder photometrisch auf Eisen analysiert.

Zu den Bestimmungsmethoden von Eisen mit aromatischen Verbindungen zählt die sehr empfindliche Farbreaktion von Fe²⁺ mit Ferrospectral Na₂[3-(2-Pyridyl)-5,6-bis(4-phenylsulfonsäure)-1,2,4-triazin]. (Spectroquant Testsatz 14761 von Merck)

Die Reduktion zu Eisen(II) erfolgt nach Zugabe von Thioglycolsäure –Puffer innerhalb weniger Minuten, wobei zugleich Eisenkomplexe (z.B. mit Huminsäuren, Fluorid oder Phosphat) zerstört werden. Hydrolysiertes Eisen(III) wird jedoch von Thioglycolsäure nur langsam abgebaut, sodass nach Zugabe des Reagenz Wartezeiten bis zu 30 Minuten nötig sind (erkennbar an einer langsamen Zunahme der Farbintensität).

pH und spezifische elektrische Leitfähigkeit des filtrierten Moorwassers werden bestimmt.

Meersalz:

Im Rahmen des Praktikums verwendetes Rezept:

Für 1000 mL Probe sind einzuwägen: 23,92 g NaCl, 4,00 g Na₂SO₄, 0,66 g KCl, 0,19 g NaHCO₃, 0,098 g KBr, 0,026 g H₃BO₃, 0,003 g NaF, 10,83 g MgCl₂·6 H₂O, 1,528 g CaCl₂·2 H₂O, 0,0239 g SrCl₂·6 H₂O

8 Liter filtriertes Moorwasser werden zur Ausfällung der unter Meerwassersalinität nicht löslichen Huminstoffkomponenten mit der synthetischen Meersalzmischung versetzt. Um die Sauerstoffsättigung der mixing zone zu simulieren, wird das offene Gefäß mehrere Tage lang auf dem Rüttler geschüttelt.

2. Abschnitt:

Das gesamte Volumen der Moorwasser-Meersalzlösung wird durch 0,2µ Celluloseacetatfilter druckfiltriert, um die unter Meerwassersalinität unlöslichen Huminstoffkomponenten abzutrennen.

Aus der filtrierten Lösung werden neuerlich Proben zur DOC-Bestimmung, sowie weitere Proben zur photometrischen Eisenbestimmung gezogen und analysiert. pH und spezifische elektrische Leitfähigkeit des Filtrats werden bestimmt.

Die filtrierte Moorwasser-Meersalzlösung, welche die dauerhaft im Meerwasser löslichen niedermolekularen Huminstofffraktionen incl. das darin komplex gebundene Eisen enthält, wird nun einer Festphasenextraktion FFE (engl.: solid phase extraction, kurz SPE, früher auch Sorbensextraktion) unterzogen.

Ziel der SPE ist, das Isolat (in unserem Fall die gering konzentrierte gelöste Huminstofffraktion

- aufzukonzentrieren und
- von den Salzen zu befreien

Die SPE beruht auf einem Verteilungsgleichgewicht zwischen einer flüssigen und einer festen Phase (dem Sorbens, Varian Mega Bond Elut C18), welche in eine Säule gepackt ist.

Die Säule wird mit 100 mL Methanol und anschließend 50 mL angesäuertem (pH=2) Milli-Q Wasser vorbehandelt.

Es ist darauf zu achten, dass das Sorbens vor der Extraktion mit Wasser gesättigt ist und zu keinem Zeitpunkt trockenläuft! Vor dem Extraktionsprozess ist die anzureichernde Lösung (8L) mit konz. HCl auf pH=2 einzustellen und gut durchzumischen. Durch die pH Absenkung können nach einiger Zeit Bestandteile ausflocken, die sich dadurch der Analyse entziehen würden, daher ist **sofort** nach der pH Einstellung die Festphasenextraktion durchzuführen.

Die Probelösung wird mittels einer peristaltischen Pumpe durch die SPE Säule gepresst (50 mL/min). Nach der Extraktion wird die SPE Säule mit 1L angesäuertem (pH=2) Milli-Q Wasser gespült, um restliches Salz zu entfernen. Die SPE Säule kann dann bei 4°C im

Kühlschrank gelagert werden.

3. Abschnitt:

Die nunmehr auf der SPE-Säule adsorbierten und angereicherten Eisen-Huminstoffkomplexe werden aus dem Kühlschrank genommen, und, nachdem sie sich auf Raumtemperatur erwärmt haben, mit 100 mL reinem Methanol eluiert. Das Eluat wird im Rotavapor auf etwa 5mL eingedampft und mit 95mL Wasser aufgenommen, sodass das Lösungsmittel für die Eisen-Huminstoffkomplexe nunmehr ca. 5% Methanol ist.

Die Auftrennung in unterschiedliche Fraktionen erfolgt mittels Größenausschluss-Chromatographie (Size Exclusion Chromatography SEC). Eine bereits vorbereitete Säule ist gepackt mit Sephadex LH-20 als stationärer Phase, welche in 5% wässriger Methanol-Lösung gequollen ist.

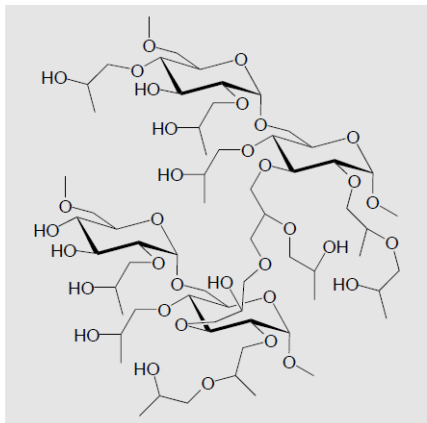


Abb. 5: Strukturausschnitt von Sephadex LH-20

SEC ist eine Methode zur Auftrennung gelöster Moleküle nach deren Größe. Große Moleküle werden am Porensystem der stationären Phase vorbeigeschleust und verlassen die Säule zuerst, während kleinere Moleküle in die Porenräume der stationären Phase eindringen und daher länger in der Säule verweilen.

5 mL Probe werden aufgebracht. Eluiert wird mit 5% Methanol. Die Dauer eines Trenndurchganges beträgt ca. 10h. Zur Detektion der Huminstoffe wird die UV Absorption bei $\lambda=254$ nm verwendet. Pro Peak werden ca. 10 mL des Eluats aufgefangen. Ergebnis: 16 Fraktionen à ca. 11mL. Je 1 mL wird für die Eisenanalyse abgezweigt, während 10 mL ausgesuchter Fraktionen in den nun folgenden Arbeitsschritten für die GC-MS Analyse vorbereitet werden.

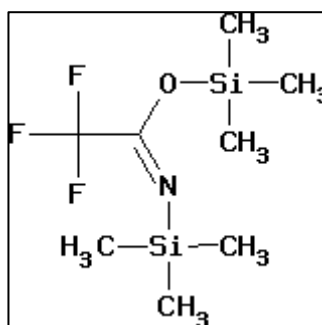
4. Abschnitt:

Vorbereitung der 4 Fraktionen zur GC-MS Analyse:

Allgemeines:

1. Die Proben werden einer Oxidation mit Kupferoxid CuO unterworfen (ca. 4 Stunden je Fraktion)
2. Die –OH Gruppen der oxidierten Proben werden silyliert. Die Silylierung erhöht die Flüchtigkeit der zu untersuchenden Moleküle, sodass die GC-MS mit 250°C bis 300°C gefahren werden kann und keine Pyrolyse erforderlich ist.

Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid:



CuO Oxidation:

Jede der 10 mL Fraktionen wird am Rotationsverdampfer bei 35°C bis auf 1 mL eingedunstet. Die Probe wird entnommen, der Kolben wird mit 1 mL Milli-Q Wasser ausgespült. Beide Volumina werden vereinigt. So erhält man 2 mL Probe, die der CuO Oxidation unterworfen werden. 20 g CuO Pulver werden auf einer Nutsche mehrmals mit 5 mL CH₂Cl₂ gewaschen und getrocknet. 1g des gereinigten CuO werden zusammen mit 2 mL Probelösung, 50 mg Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6 H₂O (Mohr'sches Salz, als Sauerstoff-Fänger) und 2 mL 8% NaOH in einen Teflontiegel gegeben und mit Argon gespült. Die CuO Oxidation wird in einer Minibombe bei 170°C 3 Stunden am Rüttler durchgeführt. Die aufgeschlossene Lösung wird mit 3x20 mL NaOH (8%) aus dem Tiegel gewonnen und es wird jeweils das CuO abzentrifugiert. Schließlich liegen 64 mL Lösung vor.

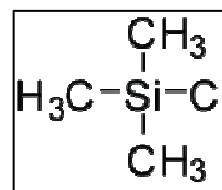
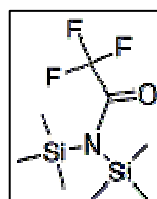
Diese basische Lösung wird mit conc. HCl an der Glaselektrode angesäuert (pH=1), damit die Phenole und organischen Säuren in der protonierten Form (ungeladen) vorliegen. Die Lösung hat nun ein Volumen von ca. 100 mL. Nun wird 3x mit 20 mL Diethylether extrahiert. Der Diethylether wurde vorher destilliert und wurde mit einer gesättigten Lösung von

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ behandelt, um Peroxide zu entfernen. Die 60 mL Diethylether-Lösung wird mittels einer Na_2SO_4 Säule getrocknet und danach im Rotationsverdampfer unter Zugabe von etwas trockenem Na_2SO_4 auf 5 mL eingengt. Der Kolben wird mit 5 mL Diethylether gespült, beide Volumina werden in einem kleinen Becherglas vereinigt (10 mL). Nun wird im wasserfreien Argonstrom abgedampft, der Rückstand wird in 5 mL Pyridin aufgenommen.

Silylieren:

200 μL der Pyridinlösung werden mit 200 μL des Silylierungsreagens

N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid mit Trimethylchlorosilan bei 80°C 10 min erhitzt. (Den Schraubdeckel des Gefäßes dabei ganz leicht geöffnet lassen.)



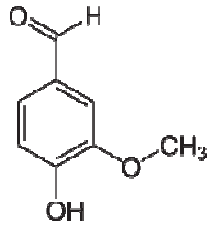
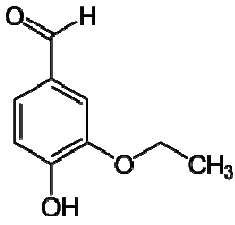
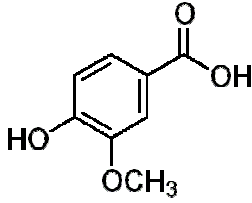
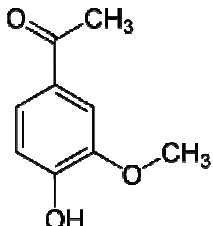
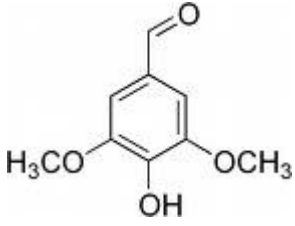
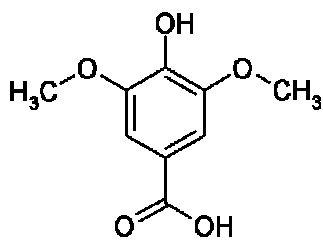
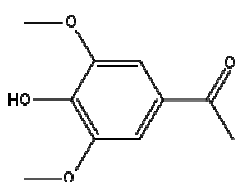
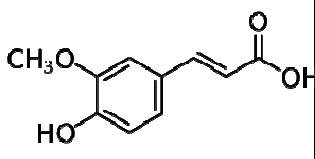
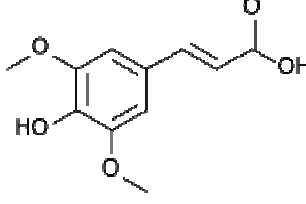
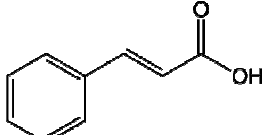
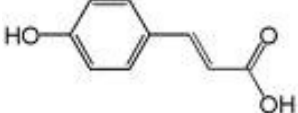
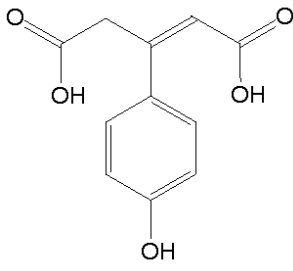
Gaschromatographie:

Die Proben werden durch den Vergleich mit Standardsubstanzlösungen analysiert, wobei jeweils 3 für die gesuchten Verbindungen charakteristische Massen in der Probe (Tabelle 1) gescannt werden, und die Elutionszeiten der Peaks verglichen werden. Das Programm für die Analyse ist vorgegeben und wird mit einer Temperaturrampe ausgehend von 100° auf 250° erhitzt, betrieben. Der Heliumgasstrom hat eine Fließgeschwindigkeit von 1,3 ml/min und die Säulenlänge beträgt 30m. Die Splitratio beträgt 1/13.

Ethylvanillin	167/195/238
Vanillin	194/193/209
Acetovanillon	193/208/223
Vanillinsäure	267/297/312
Syringaldehyde	224/239/254
Acetosyringone	238/253/268
Syringic Acid	327/312/342
p-Coumaric Acid	219/293/308
Ferulic Acid	338/249/323

Tabelle 1 – Nachzuweisende Huminstoffbausteine und deren charakteristische Massen

Herzustellen sind 10mL Standardlösungen der Konzentration 500 mg L⁻¹. Somit sind 5 mg der (festen) Standardsubstanzen auf der 5-stelligen Waage einzuwägen und in jeweils 10mL Pyridin zu lösen.

<p>vanillin</p> 	<p>ethylvanillin</p> 	<p>vanillic acid</p> 
<p>acetovanillone</p> 	<p>syringaldehyde</p> 	<p>syringic acid</p> 
<p>acetosyringone</p> 	<p>ferulic acid</p> 	<p>sinapic acid</p> 
<p>cinnamic acid</p> 	<p>p-coumaric acid</p> 	<p>sphagnum acid</p> 

In den 4 untersuchten Fraktionen wurde parallel vom Betreuer mit ICP-OES der Eisengehalt

gemessen, um abschätzen zu können, ob einzelne der mit GC-MS nachgewiesenen organischen Liganden das Eisen bevorzugt binden.

Bemerkungen zum Protokoll:

Bitte um möglichst genaue Angaben zu den durchgeführten Arbeitsschritten, sowie um eine Zusammenfassung der Ergebnisse, insbesondere:

- Charakterisieren Sie die filtrierte (0,2 µm) Moorwasser-Probe hinsichtlich pH-Wert, spezifische elektrische Leitfähigkeit, Gehalt an organischem Kohlenstoff (DOC), Eisenkonzentration.
- Wie verändern sich DOC und Eisenkonzentration durch das Auflösen von Meersalz in der Probe, mehrtägiges Schütteln und anschließendes Filtrieren (0,2 µm)? (Sollwert der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit in der Meersalzlösung: 45 mS/cm)
- Welche organischen Komplexbildner für Eisen konnten Sie in der Meersalzlösung eindeutig nachweisen?